

Wybrane zagadnienia dotyczące inaktywacji biologicznych czynników chorobotwórczych w składnikach krwi w świetle doniesień prezentowanych na 35. Międzynarodowym Kongresie *International Society of Blood Transfusion* w Toronto, 2–6 czerwca 2018 roku

Chosen issues regarding the inactivation of biological pathogens in blood components in the light of reports presented at the 35th International Congress of the International Society of Blood Transfusion in Toronto, 2-6 June 2018

Michał Bubiński, Paweł Szykuła

Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa, Łódź

Podczas Międzynarodowego Kongresu *International Society of Blood Transfusion* (ISBT), który odbył się w Toronto (Kanada) w dniach 2–6 czerwca 2018 roku, podobnie jak w latach poprzednich wiele uwagi poświęcono metodom inaktywacji biologicznych czynników chorobotwórczych w składnikach krwi. Zagadnienia te szczegółowo omówiono podczas sesji plenarnych i plakatowych. Na sesji plenarnej wygłoszono pięć wykładów dotyczących inaktywacji.

W czasie zjazdu ISBT zaprezentowano ponad 800 prac plakatowych, z czego 29 dotyczyło inaktywacji czynników chorobotwórczych w składnikach krwi, przy zastosowaniu trzech systemów: *Mirasol*, *Intercept* oraz *Theraflex*.

Sesje plenarne

Inauguracyjny wykład, zatytułowany *Pathogen inactivation technologies: progress, hurdles and the future*, poprowadziła prof. Dana Devine z Kanady. Podczas swojej prezentacji przedstawiła ona stosowane rutynowo metody inaktywacji biologicznych czynników chorobotwórczych w składnikach krwi. Omówiła zarówno trudności związane z wdrażaniem metod inaktywacji, jak i kierunek, w którym zmierza stosujące te metody krwiolecznictwo. Inaktywację biologicznych czynników chorobo-

twórczych w osoczu i w koncentratkach krwinek płytkowych (KKP) wykonuje się w Europie od prawie 20 lat i w niektórych krajach liczba poddanych inaktywacji składników krwi stopniowo rośnie.

Rutynowo stosowane są obecnie trzy systemy do inaktywacji czynników chorobotwórczych w składnikach krwi. W 2000 roku opracowano system *Theraflex MB-Plasma* do inaktywacji czynników zakaźnych w osoczu. W 2002 zastosowano *Intercept* w celu inaktywacji czynników zakaźnych w KKP, a następnie w 2006 roku — w osoczu. W latach 2007–2008 wdrożono z kolei system *Mirasol*, odpowiednio dla KKP i osocza. *Theraflex UV Platelets* (firma Macopharma), przeznaczony przede wszystkim do inaktywacji czynników zakaźnych w KKP, jest w fazie badań klinicznych.

Każdy z tych systemów jest oparty na innym mechanizmie działania i ma zarówno zalety, jak i pewne ograniczenia. Zagadnienia te są od lat tematem wielu publikacji i dyskusji w gronie ekspertów. Uważa się, że idealna metoda inaktywacji to taka, która jest w stanie skutecznie zmniejszyć większość czynników zakaźnych, nie uszkadzając jednocześnie komórkowych składników krwi oraz nie obniżając aktywności białek osocza. Idealna metoda jednak nie istnieje. Dlatego, dokonując wyboru metody inaktywacji do rutynowego stoso-

Adres do korespondencji: mgr Michał Bubiński, Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Łodzi, ul. Franciszkańska 17/25, 91–443 Łódź, tel. (42) 616 14 63, e-mail: michal.bubinski@gmail.com

wania, należy wziąć pod uwagę równowagę między ryzykiem zakaźnym a skutecznością leczniczą składnika krwi poddanego inaktywacji.

W dalszej części wykładu przedstawiono krótki opis mechanizmów działania dostępnych metod inaktywacji, które są rutynowo stosowane w 35 krajach świata na niemal wszystkich kontynentach. Jak podkreślono w wykładzie, w krajach wysoko rozwiniętych, w których inaktywacja czynników chorobotwórczych jest stosowana na szeroką skalę, nie ma oczywistych dowodów, że inaktywowana krew pełna lub jej składniki faktycznie są najlepszym wyborem dla pacjentów — przede wszystkim dlatego, że w krajach tych nie ma istotnego zagrożenia epidemiologicznego. Jednakże w krajach słabo rozwiniętych, gdzie zagrożenie przeniesienia czynników zakaźnych podczas transfuzji jest znacznie wyższe, wdrożenie metod inaktywacji, wydaje się mieć istotne znaczenie [1].

Prezentowano również pracę wykonaną w Ghanie, w której wykazano, że wykorzystanie systemu *Mirasol* obniżyło zakażenie zarodźcem malarii podczas transfuzji — z 22% w przypadku składników krwi niepoddanych inaktywacji do 4%, w przypadku gdy składniki krwi poddawano inaktywacji biologicznych czynników chorobotwórczych w systemie *Mirasol* [2].

W kolejnej pracy wykazano, że niezależnie od zastosowanej metody proces inaktywacji obniża skuteczność przetoczeń KKP [3, 4]. W kilku referatach podkreślono, że inaktywacja zwiększa aktywację krwinek płytkowych [5–7].

W jednym z wystąpień przytoczono pracę Schuberta i wsp., w której porównano jakość składników krwi uzyskanych z krwi pełnej konserwowanej (KPK), poddanej inaktywacji w systemie *Mirasol*, ze składnikami krwi uzyskanymi z KPK niepoddanej procesowi inaktywacji. Składniki krwi poddano inaktywacji bezpośrednio po rozdziale. Na podstawie otrzymanych wyników badań stwierdzono, że KKP uzyskane z KPK poddanej procesowi inaktywacji wykazują lepsze jakościowo parametry niż KKP poddane inaktywacji bezpośrednio. Z kolei koncentraty krwinek czerwonych (KKCz) uzyskane z inaktywowanej KPK charakteryzowały się gorszymi parametrami niż krwinki uzyskane z KPK niepoddanej inaktywacji. W przypadku świeżo mrożonego osocza (FFP, *fresh frozen plasma*) obserwowano stratę w aktywności kilku istotnych czynników krzepnięcia (3–44%) [8].

Celem kolejnej pracy przedstawionej na Kongresie było wykazanie, czy poddane inaktywacji KKP są równie skuteczne jak standardowe KKP w zapobieganiu krwawieniom u osób wymagających

transfuzji KKP. Stwierdzono, że u osób z chorobą nowotworową, u których niska liczba płytek krwi jest spowodowana chorobą lub wynika ze sposobu leczenia, transfuzja poddanych inaktywacji KKP zwiększa ryzyko oporności na przetaczane KKP, a tym samym zwiększa liczbę przetoczeń KKP [9].

Kolejne wystąpienia dotyczyły prac, których celem było porównanie jakości KKCz otrzymanych z KPK poddanej inaktywacji w systemie *Mirasol* z KKCz poddanymi inaktywacji metodą chemiczną z S-303 [10, 11].

Sesje plakatowe

Ze względu na dużą liczbę doniesień dotyczących inaktywacji w trakcie sesji plakatowych autorzy niniejszego sprawozdania zdecydowali się na przedstawienie tylko najciekawszych prac plakatowych, wybranych także do prezentacji ustnych.

Jedną z takich prac była prezentacja Nicholas Saadah z Holandii, który porównywał kliniczną skuteczność i bezpieczeństwo przetaczanego FFP z osoczem metodą rozpuszczalnik–detergent (SD, *solvent-detergent*). W pracy tej udowodniono, że w przypadku przetaczania osocza SD odnotowano znacznie mniej niepożądanych zdarzeń i reakcji, niż miało to miejsce po transfuzji FFP. Dodatkowo, pomimo mniejszej objętości jednostek osocza SD (ok. 200 ml) nie wykazano mniejszej skuteczności klinicznej osocza SD w porównaniu z FFP. Praca ta stanowiła doskonały materiał edukacyjny dla lekarzy, którzy nadal obawiają się stosowania osocza poddanego inaktywacji biologicznych czynników chorobotwórczych [12].

Kolejną prezentacją ustną wybraną z sesji plakatowej była praca, w której zaprezentowano badania jakości KKP poddanych inaktywacji metodą z zastosowaniem samego UVC (system *Theraflex UV Platelets*), a następnie przechowywanych w temperaturze lodówki. Australijscy naukowcy zdecydowali się na zastosowanie takiej metody, ponieważ przechowywanie KKP w temperaturze pokojowej ogranicza ich okres ważności do 5–7 dni, zwiększa ryzyko namnażania się bakterii i w konsekwencji zwiększa ryzyko wystąpienia niepożądanych reakcji. Zarówno przechowywanie KKP w temperaturze lodówki, jak i zastosowanie metody inaktywacji mogą wydłużyć czas przechowywania KKP i zwiększyć bezpieczeństwo ich stosowania. Dotychczas każda z tych technik była badana indywidualnie. Na podstawie wyników badań jakości KKP poddanych inaktywacji i przechowywanych w temperaturze pokojowej stwierdzono zmniejszony metabolizm KKP, zwiększony potencjał hemostatyczny i utrzymującą

się zdolność do agregacji. Wprawdzie stwierdzono także możliwość przechowywania takich KKP do 14–21 dni, ale należałoby to jeszcze potwierdzić w badaniach klinicznych [13].

Inaktywacji biologicznych czynników chorobotwórczych w systemie *Mirasol* poświęcono sześć oryginalnych prac (4 dotyczyły KKP, 1 — osocza i 1 — krwi pełnej).

Inaktywacja czynników zakaźnych w krwi pełnej została zaprezentowana przez Trakhtman i wsp. z Moskwy. W pracy dokonano porównania w badaniach *in vitro* parametrów KKCz poddawanych działaniu promieniowania X i parametrów KKCz otrzymanych z krwi pełnej poddanej inaktywacji w systemie *Mirasol*. Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w wartości pH, stężeniu hemoglobiny, stężeniu potasu pozakomórkowego, ekspresji fosfatydyloseryny, ATP i GSH między KKCz po napromienianiu a KKCz otrzymanymi z krwi pełnej poddanej inaktywacji. Stężenie glukozy i mleczanów były znacząco niższe w grupie inaktywowanych KKP niż w grupie napromieniowanych KKP — w każdym badanym dniu przechowywania. W 14. dniu przechowywania w KKCz poddanych inaktywacji zaobserwowano wyższe stężenie wolnej hemoglobiny oraz wyższą hemolizę w porównaniu do KKCz napromieniowanych. W 21. dniu przechowywania dziewięciu próbek (36%) z KKCz poddanych inaktywacji przekroczyło 0,8% hemolizy. We wszystkich badanych dniach przechowywania w napromieniowanych KKCz hemoliza nie przekroczyła 0,8%. Na podstawie wykonanych badań stwierdzono, że wartości poszczególnych parametrów kontroli jakości KKCz z obu badanych grup są porównywalne do 14. dnia przechowywania.

Podsumowanie

W sprawozdaniu z Kongresu ISBT, który odbył się w tym roku w Toronto, autorzy skupili się przede wszystkim na metodach inaktywacji biologicznych czynników chorobotwórczych w KKCz i krwi pełnej, ponieważ metody te od lat budzą duże nadzieje, a nadal nie wdrożono ich do rutynowego stosowania. Z chwilą wprowadzenia tych metod do rutynowego stosowania wszystkie składniki krwi będą mogły być poddawane inaktywacji biologicznych czynników chorobotwórczych, co znacznie podwyższy epidemiologiczne bezpieczeństwo przetoczeń. Ponadto, ponieważ metody te skutecznie inaktywują również limfocyty T, będzie można zastanowić się nad rezygnacją ze stosowania radiatorów, wykorzystywanych obecnie do napromieniania komórkowych składników krwi.

Piśmiennictwo

1. Devine DV. Pathogen Inactivation Strategies to Improve Blood Safety: Let's Not Throw Pathogen-Reduced Platelets Out With Their Bath Water. *JAMA Oncol.* 2018; 4(4): 458–459, doi: [10.1001/jamaoncol.2017.4949](https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2017.4949), indexed in Pubmed: [29392303](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29392303/).
2. Allain JP, Owusu-Ofori AK, Assennato SM, et al. Effect of Plasmodium inactivation in whole blood on the incidence of blood transfusion-transmitted malaria in endemic regions: the African Investigation of the Mirasol System (AIMS) randomised controlled trial. *Lancet.* 2016; 387(10029): 1753–1761, doi: [10.1016/S0140-6736\(16\)00581-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00581-X), indexed in Pubmed: [27116282](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27116282/).
3. Klein-Bosgoed C, Schubert P, Devine DV. Riboflavin and ultraviolet illumination affects selected platelet mRNA transcript amounts differently. *Transfusion.* 2016; 56(9): 2286–2295, doi: [10.1111/trf.13715](https://doi.org/10.1111/trf.13715), indexed in Pubmed: [27443848](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27443848/).
4. Osman A, Hitzler WE, Meyer CU, et al. Effects of pathogen reduction systems on platelet microRNAs, mRNAs, activation, and function. *Platelets.* 2015; 26(2): 154–163, doi: [10.3109/09537104.2014.898178](https://doi.org/10.3109/09537104.2014.898178), indexed in Pubmed: [24749844](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24749844/).
5. van Rhenen DJ, Vermeij J, Mayaudon V, et al. Functional characteristics of S-59 photochemically treated platelet concentrates derived from buffy coats. *Vox Sang.* 2000; 79(4): 206–214, doi: [10.1159/000056732](https://doi.org/10.1159/000056732), indexed in Pubmed: [11155071](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11155071/).
6. Picker SM, Speer R, Gathof BS. Functional characteristics of buffy-coat PLTs photochemically treated with amotosalen-HCl for pathogen inactivation. *Transfusion.* 2004; 44(3): 320–329, indexed in Pubmed: [14996187](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14996187/).
7. Johnson L, Loh YS, Kwok M, et al. In vitro assessment of buffy-coat derived platelet components suspended in SSP+ treated with the INTERCEPT Blood system. *Transfus Med.* 2013; 23(2): 121–129, doi: [10.1111/tme.12020](https://doi.org/10.1111/tme.12020), indexed in Pubmed: [23480103](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23480103/).
8. Schubert P, Culibrk B, Karwal S, et al. Whole blood treated with riboflavin and ultraviolet light: quality assessment of all blood components produced by the buffy coat method. *Transfusion.* 2015; 55(4): 815–823, doi: [10.1111/trf.12895](https://doi.org/10.1111/trf.12895), indexed in Pubmed: [25355434](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25355434/).
9. Estcourt LJ, Malouf R, Murphy MF. Pathogen-Reduced Platelets for the Prevention of Bleeding in People of Any Age. *JAMA Oncol.* 2018; 4(4): 571–572, doi: [10.1001/jamaoncol.2017.5049](https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2017.5049), indexed in Pubmed: [29372241](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29372241/).
10. Cancelas JA, Slichter SJ, Rugg N, et al. Red blood cells derived from whole blood treated with riboflavin and ultraviolet light maintain adequate survival in vivo after 21 days of storage. *Transfusion.* 2017; 57(5): 1218–1225, doi: [10.1111/trf.14084](https://doi.org/10.1111/trf.14084), indexed in Pubmed: [28369971](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28369971/).
11. Cancelas JA, Gottschall JL, Rugg N, et al. Red blood cell concentrates treated with the amustaline (S-303) pathogen reduction system and stored for 35 days retain post-transfusion viability: results of a two-centre study. *Vox Sang.* 2017; 112(3): 210–218, doi: [10.1111/vox.12500](https://doi.org/10.1111/vox.12500), indexed in Pubmed: [28220519](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28220519/).
12. Saadah N, Schipperus M, Wiersum-Osselton J, et al. Comparing clinical use: effectiveness, and risk across transfusion from fresh frozen plasma to solvent/detergent plasma in the Netherlands. *Vox Sang.* 2018; 113 (1): 5–347. (p. 33).
13. Cameron M, Waters L, Padula M, et al. Combining UVC-Pathogen inactivation and Cold-storage : a novel approach to improve platelet safety and extend the shelf — life. *Vox Sang.* 2018; 113 (1): 5–347. (p. 33).
14. Kumukova I, Trakhtman P, Starostin N, et al. Comparison of laboratory parameters of pathogen reduced and irradiated RBC suspension. *Vox Sang.* 2018; 113 (1): 5–347. (p. 169).